



特許庁長官 齋藤英雄 殿



昭和49年10月4日

特許庁長官 齋藤英雄 殿

1. 発明の名称

高度の生物活性を有するデキストランポリリン酸エステルの製造法

2. 発明者

特許出願人と同じ

3. 特許出願人

住所 宮城県仙台市東照宮1丁目14番34号
氏名 鈴木 茂 生

4. 代理人

〒194-01
住所 東京都町田市能ヶ谷町863番地
氏名 込 山

明 細 書

1. 発明の名称

高度の生物活性を有するデキストランポリリン酸エステルの製造法

2. 特許請求の範囲

デキストランのポリリン酸エステルを製造するに際し、十分乾燥したデキストランを用いてポリリン酸化を行ない、精製工程中に於ては中性もしくは弱アルカリ性で処理することを特徴とするデキストランポリリン酸エステルの製造法。

3. 発明の詳細な説明

本発明はインターフェロン（以下IFと略す）誘起作用を有するデキストランポリリン酸エステル（以下DPPと略す）を製造する方法である。IFは抗ウイルス性糖蛋白で、ウイルスあるいは本発明のような物質の刺激により、正常細胞から産生する。近年、IF自体あるいはI

① 日本国特許庁

公開特許公報

①特開昭 51- 41083

③公開日 昭51. (1976) 4. 6

②特願昭 49- 113932

②出願日 昭49. (1974) 10. 4

審査請求 未請求 (全3頁)

庁内整理番号

7253 45

5647 44

5647 44

⑤日本分類

26(1)B21

30 G181.2

30 H25

⑤Int. Cl³

C08B 37/02

A61K 31/725

F誘起剤を用いてヒトのウイルス感染症を予防・治療しようとする動きが活発になり、poly I: Cなどの二重鎖RNAが開発されつつある。しかしながらpoly I: Cは副作用が多く、微量の静脈内投与でも催奇性や胸腺の減少を来すため、局所投与で点眼や鼻腔へのスプレーに限られている。本発明のDPPは毒性がきわめて低く、静注、筋注、皮下注および鼻腔へのスプレー投与でもなんら異常が認められないことが、種々の動物実験の結果判明した。

デキストランモノリン酸エステル（以下DMPと略す）はWhistler等によつてすでに合成されている（Arch. Biochem. Biophys. 135, 366-401, 1969）。本発明者はWhistler等の方法を一部変えてDMPを合成した（Japan. J. Microbiol. 16, 1-5, 1972）。変えた工程はWhistler等が用2で精製しているところを、本発明者は用72にして行なつた。当時DMPと考えていたが、最近の研究の結果これはDMPでなく、新規化合物DPPであつたことが判

明した。このDPPはリンの含量が0.6~1.9%であり、IF titerは160~2560とまちまちであり、常に活性の高いものが得られなく、またその後の詳細な測定の結果、最高の値2560を示したものでもIF titerは300~600にすぎなかつたし、IF titer 160~640のものはほとんど不活性であつた。本発明者はこのDPPの活性を上げるため、また常に活性の高いDPPを得るため種々の研究を行なつた結果、リン含量0.6~1.9%のDPPの最も良いものよりさらに2~4倍活性が高まつたDPPが常に得られる製造法に成功した。この高活性DPPはリン含有量が8~16%のものである。以下詳細にその製造法を記す。リン含量を上昇させるために種々検討したところ、おどろくことに原料に使用するデキストランの水分を十分に除いておくことにより達せられることがわかつた。そうすることにより、1~2%のリンしか結合しなかつたDPPは14~16%までにもリン含量を高めることができ、

高活性のDPPが得られた。デキストランから水分を除くには種々考えられるが、好ましくはデキストランを蒸留水に溶解し、メタノール等のアルコール系の溶媒を加えて沈殿させ、さらにメタノール等で数回洗い、デシケーター中で十分に乾燥させる方法が優れている。もう一つの重要なことは、製造工程中に使用する水は好ましくは蒸留水を使用することである。もし水道水を使用すると、おそらく水道水中の金属イオンのために生物活性の低下したDPPが得られることがある。例えば水で透析する工程に於て、20時間以上水道水で行なうとDPPの生物活性が低下することが多いので、本工程中は金属イオンを除去した水を使用するのがよい。デキストランとポリリン酸を溶解するために使用する溶媒で好ましいのはジメチルホルムアミドやホルムアミドである。この場合、デキストランが溶媒に十分溶けていることが好ましい結果を与える。リン酸化を行なう場合、リン酸化促進のために有機アミンが使用できる。その時

の有機アミンとしては、トリエチルアミン、トリプロピルアミン、トリブチルアミン等が適している。ポリリン酸化のために使用するポリリン酸は種々あるが、3個以上のリンが結合している、例えばテトラポリリン酸、ヘキサメタリン酸などが生物活性の高いDPP製造に好ましい結果を与える。反応温度は常温程度でもよいが、加熱した方が好ましい。反応時間は1~48時間程度であるが、一般には数時間で反応は完結する。

DPPの精製工程中では中性ないし弱アルカリ性で行なうことが絶対必要であり、もし酸性にするとせっかくできた活性の高いDPPは、活性のないDMPに変化してしまふ。この時のPHは7~9の範囲がよく、最も好ましいのはPH 7.2の時である。デキストランの分子量は1万から10万が適当であるが、最も望ましいのは4万前後の分子量のものである。デキストランの分子量が4万より小さいと生物活性が低下する。反対に分子量が高いと水に溶けづらくなり、

毒性が増して好ましくない。

次に代表的な実施例を記す。

実施例 1

テトラポリリン酸3gをジメチルホルムアミド20mlおよびトリブチルアミン6.4mlの混合溶液に溶解させる。次に分子量約4万の充分に水分を除去したデキストランを加え、よく混じ、120°で5時間加熱する。その後25°に冷却し、反応液全量の5倍量のメタノールを加えると沈殿物が生成する。蒸留水200mlにこの沈殿物を溶解し、N-水酸化ナトリウム液を加えPH 9~10とし、減圧下で遊離のトリブチルアミンを除去し、再び5倍量のメタノールを加える。生じた沈殿物を前と同様に蒸留水に溶かす。N-塩酸でPH 7.2とし、蒸留水で36時間透析し、無機リン酸などの低分子の夾雑物を除く。さらに5倍量のメタノールを加え、生じる沈殿をエタノールで洗い塩化カルシウムで乾燥すると、白色のDPP 1.5gが得られる。化学分析を

すると、リンが14%、糖が58%である。IRスペクトルを測定すると、 970 cm^{-1} にピロリン酸エステル結合に特有な吸収が認められる。

実施例 2

ヘキサメタリン酸3gをジメチルホルムアミド25mlおよびトリ-*n*-ブチルアミン6.4mlの混合溶液に溶解させる。次に分子量約35万の充分に水分を除去したデキストランを加えよく混じ、 120° で6時間加熱する。以下実施例1と同様に行なうとDPP15gが得られる。

実施例 3

実施例1のトリ-*n*-ブチルアミン6.4mlに変えてトリエチルアミン7mlを使用して、1の方法を繰り返すことができ、DPP14.8gが得られる。

実施例 4

実施例1のジメチルホルムアミド20mlに変え

特開昭51-41083(3)

てホルムアミド5mlを使用して、1の方法を繰り返すことができ、DPP13gが得られる。

実施例1~4で製造されたDPPは強いIF誘起作用を有している。

5. 添付書類の目録

- | | |
|-----------------------------|-----|
| (1) 願書副本 | 1 通 |
| (2) 明細書 | 1 通 |
| (3) 委任状 | 1 通 |
| (4) 特許法第30条第1項の適用を受けようとする誓面 | 1 通 |

昭和49年9月28日

学 会 発 表 証 明 書

鈴木 茂 生 殿

担当座長 堀 誠
日本薬学会会頭 柴 田 永 三

日本薬学会第94年会生物化学部会において、下記の通り発表したことを証明します。

記

演題番号 6L11-2

演 題 インターフェロン誘起剤デキストランリン酸エステルの活性部位について

発表者所属・氏名 東北薬科大学

鈴木 益子, O 佐 藤 威, 鈴木 茂生

発表内容 別 冊 (講演要旨)

発表年月日 昭和49年4月6日

発表場所 仙台市川内

東北大学 教養B200